

PENETAPAN KADAR POLIFENOL TOTAL EKSTRAK ETIL ASETAT BIJI MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L)

DETERMINATION OF TOTAL POLYPHENOL CONTENT OF ETHYL ACETATE EXTRACT OF NORI SEEDS (*Morinda citrifolia* L)

Andi Athifah Apiathi

Poltekkes Kemenkes Makassar

ABSTRACT

*Noni seeds, which have been considered only waste, actually have benefits as antioxidants. One of the contents of noni seeds that is useful as an antioxidant is polyphenol compounds. The aim of this research was to determine the total polyphenol content of ethyl acetate extract of Noni seeds (*Morinda citrifolia* L). Noni seeds (*Morinda citrifolia* L) were extracted using the soxhletation method with ethyl acetate as a solvent. Polyphenol content was measured qualitatively using a 1% FeCl₃ solution and quantitative testing using the UV-Vis spectrophotometer method. Qualitative measurement results show that the samples contain polyphenolic compounds. This is reinforced by the presence of indicators of the formation of a dark blackish brown color. Quantitative measurements using UV-Vis Spectrophotometry showed that the sample contained polyphenolic compounds with a total content of 107.4747 mg GAE/g, equivalent to 10.75%. This research is expected to provide information for the field of pharmacology regarding noni seeds as a source of polyphenols and the public regarding the use of noni seeds as a source of polyphenols which have antioxidant activity.*

Keywords: *Antioxidants, Noni seeds, Polyphenols, UV-Vis Spectrophotometry*

ABSTRAK

Biji mengkudu selama ini dianggap hanya sebagai limbah ternyata memiliki manfaat sebagai antioksidan. Salah satu kandungan biji mengkudu yang bermanfaat sebagai antioksidan adalah senyawa polifenol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar polifenol total ekstrak etil asetat biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L). Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) diekstraksi menggunakan metode soxhletasi dengan etil asetat sebagai pelarut. Pengukuran kadar polifenol secara kualitatif menggunakan larutan FeCl₃ 1% dan pengujian secara kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Hasil pengukuran secara kualitatif menunjukkan bahwa pada sampel terkandung senyawa polifenol. Hal ini diperkuat dengan adanya indikator pembentukan warna coklat

kehitaman yang pekat. Pengukuran secara kuantitatif menggunakan Spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa pada sampel terkandung senyawa polifenol dengan total kadar 107,4747 mg GAE/g setara dengan 10,75 %. Dengan demikian biji mengkudu dapat digunakan sebagai salah satu sumber polifenol yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Kata kunci: Antioksidan, Biji mengkudu, Polifenol, Spektrofotometri UV-Vis

PENDAHULUAN

Tanaman mengkudu adalah salah satu tanaman yang berasal dari keluarga family Rubiaceae yang dikenal luas menjadi obat tradisional. Mengkudu mempunyai kurang lebih 80 jenis spesies, namun hanya 20 yang bisa dikonsumsi sisanya mengandung racun. Mengkudu yang digunakan adalah mengkudu jenis *Morinda citrifolia* L yang merupakan jenis mengkudu yang tidak mengandung racun dan termasuk dalam kategori tumbuhan tropis (Habbibie, M. J. 2019).

Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L) merupakan tanaman serba guna karena memiliki sifat yang menguntungkan bagi kesehatan seperti antikanker, antiinflamasi, antibakteri, antidiabetes, dan dapat mengatasi masalah pencernaan. Biji mengkudu selama ini dianggap hanya sebagai limbah ternyata memiliki manfaat memperbaiki kerusakan DNA dan fungsi sel, menghambat produksi melanin, antiinflamasi, dan antioksidan. Biji mengkudu memiliki golongan senyawa kimia yaitu fenol, tannin, dan vitamin C, (Geofani, C. 2022).

Polifenol merupakan senyawa fitokimia atau fitonutrien yang secara alami terkandung dalam tanaman. Polifenol adalah salah satu senyawa metabolik sekunder yang disintesis melalui metabolisme glukosa. Kelompok senyawa ini memiliki gugus hidroksil pada cincin benzene yang berperan sebagai antioksidan (Dhianawaty & Ruslin, 2019). Senyawa fenol merupakan suatu senyawa yang mengandung gugus hidroksil (OH) yang terikat langsung pada gugus cincin hidrokarbon aromatik (Firyanto, R., *et al.*, 2020). Polifenol dapat diperoleh melalui proses ekstraksi, metode ekstraksi yang dipakai adalah metode soxhletasi. Metode soxhletasi dipilih karena sampel diekstraksi secara sempurna dan dilakukan secara berulang-ulang, pelarut yang digunakan relatif sedikit dan waktu

yang digunakan lebih efisien karena prosesnya cepat. Pemilihan pelarut dalam mengekstraksi simplisia sangat mempengaruhi jumlah polifenol. Pelarut yang digunakan untuk menyaring ialah etil asetat karena dibandingkan etanol, etil asetat memiliki koefisien distribusi yang lebih tinggi dibanding etanol termasuk kelarutannya dalam gasoline. Etil asetat merupakan pelarut yang dapat melarutkan berbagai senyawa, termasuk polifenol (Risa Fadmi, M. 2024).

Penetapan kadar polifenol dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis hal ini disebabkan karena senyawa fenol berupa senyawa aromatik sehingga semuanya menunjukkan serapan kuat di daerah UV (Habiburrohman & Sukohar, 2018). Senyawa fenol merupakan salah satu bahan alam yang memiliki cincin aromatik yang berkaitan dengan satu gugus hidroksil. Senyawa fenol dari tanaman juga mempunyai kemampuan sebagai antiinflamasi, antiproliferasi, whantimutagenik dan antimikrobia. Senyawa fenol juga memiliki peran dalam mencegah dan mengobati penyakit degeneratif, gangguan kognitif, kanker, penuaan dini dan gangguan sistem imun tubuh.(Padamani *et al.*, 2020).

Berdasarkan latar belakang diatas penulis ingin mengetahui kadar total polifenol yang terkandung dalam biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut (senyawa semipolar) dan spektrofotometri UV-Vis sebagai metode penetapan kadar. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian “ Penetapan kadar polifenol total ekstrak etil asetat biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L) ”.

METODE

Desain, Tempat, dan Waktu

Penelitian ini menggunakan metode observasi laboratorium dengan tujuan yaitu untuk uji polifenol total ekstrak etil asetat biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L). Dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Labolatorium Terpadu Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar pada bulan April – Juni 2024.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi beaker glass, cawan, corong kaca, erlenmeyer, gelas ukur, penguap, labu ukur, kain kasa, pipet tetes, rotary evaporator, sendok tanduk, spektrofotometri UV-Vis, tabung reaksi, timbangan analitik.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam galat, aquadest, etanol, etil aasetat, ekstrak biji mengkudu, FeCl_3 , Na_2CO_3 7,5%, dan reagen Folin Ciocalteu.

Langkah-Langkah Penelitian

Sampel buah mengkudu diambil di wilayah Kec. Mamajang, Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Bagian yang digunakan adalah biji buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Biji Buah mengkudu dikumpulkan dari buah yang sudah matang (sudah berwarna putih kekuningan). Sampel biji mengkudu yang digunakan dikeluarkan dari dagingnya secara manual dan dicuci terlebih dahulu, kemudian biji yang telah terpisah dari daging buah dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C hingga kering, kemudian dihaluskan menggunakan blender lalu disaring dengan ayakan mesh 16 untuk mendapatkan serbuknya.

Ditimbang simplisia biji mengkudu 417,63 g lalu di rendam menggunakan n-heksan sebanyak 750 ml selama 24 jam dengan tujuan menghilangkan senyawa non polar, setelah itu dilakukan ekstraksi menggunakan metode soxhletasi dengan cara hasil simplisia dimasukkan kedalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan dibawah kondensor, kemudian dimasukkan pelarut sebanyak 750 ml. Proses ekstraksi dilakukan sampai sari yang terdapat dalam biji mengkudu habis (ditandai dengan cairan biji mengkudu yang tidak berwarna / jernih). Ekstrak soxhletasi yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental .

UJI KUALITATIF

Pembuktian kualitatif kelompok polifenol dalam sampel biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L) menggunakan larutan uji FeCl_3 1%. Proses pengujian diawali dengan menyiapkan ekstrak kemudian ditambahkan 2 mL etanol kemudian tambahkan empat

tetes larutan FeCl₃ 1%. Sampel dihomogenkan dan diamati. Apabila terbentuk warna coklat kehitaman dan hijau kehitaman, maka hal ini mengindikasikan dalam sampel mengandung senyawa polifenol (Padamani *et al.*, 2020).

UJI KUANTITATIF

Pembuatan Kurva Baku (Asam Galat)

Dibuat pengenceran larutan standar dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Dari masing larutan tersebut diambil 0,3 mL dimasukkan ke dalam vial lalu ditambahkan 1,5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (1:10) diadkan selama 3 menit lalu tambahkan 1,2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5% kemudian dibiarkan selama 30 menit lalu absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 756 nm (Salasa, A. M., & Ratnah, S. 2021).

Penetapan Kandungan Total Polifenol dari ekstrak biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L)

Ekstrak sebanyak 25 mg dan dilarutkan dengan etanol 96% sampai volume tepat 50,0 mL. Diambil 0,3 mL dari pengenceran ekstrak, kemudian dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan 1,5 ml reagen Folin-Ciocalteu (1:10) didiamkan selama 3 menit setelah itu ditambahkan 1,2 mL Natrium Karbonat 7,5% kemudian didiamkan selama 30 menit. Setelah itu absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 756 nm. Konsentrasi dihitung dari persamaan regresi larutan asam gallat standar. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dan penentuan konsentrasi polifenol menggunakan persamaan regresi linear $y = bx + a$ (Salasa, A. M., & Ratnah, S. 2021).

Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh didapatkan dari absorbansi larutan pembanding kuersetin. Dibuat kurva kalibrasi hasil pembacaan dari alat spektrofotometri UV-Vis, dan persamaan regresi linear dengan menggunakan hukum Lambert-Beer seperti pada persamaan:

$$y = bx + a$$

HASIL

Tabel 1. Nilai Persentase Rendemen Ekstrak

Jenis Pelarut	Metode Ekstraksi	Berat Simplisia	Berat Ekstrak	Rendemen Ekstrak
Etil Asetat	Soxhletasi	417,63 gr	31,88 gr	7,63%

Tabel 2. Hasil uji kualitatif kandungan polifenol ekstrak Biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

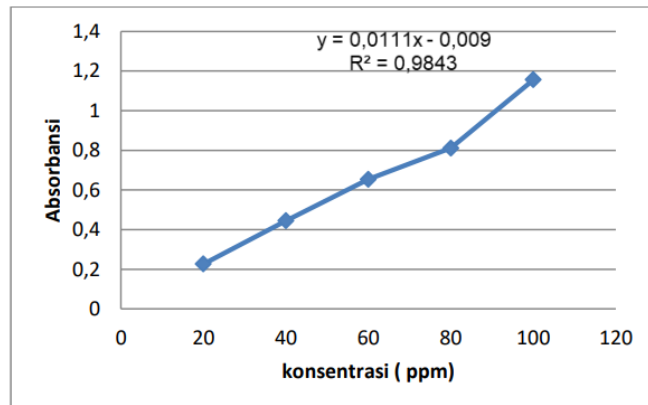
Pereaksi	Pengamatan	Literatur	Kesimpulan
Feri klorida	Larutan coklat kehitaman	Warna coklat menjadi hitam pekat (Padamani <i>et al</i> , 2020).	+ Polifenol

Tabel 3. Hasil uji kuantitatif kandungan total polifenol

Replikasi	Berat Sampel (gram)	mg GAE/g ekstrak
I	0,0254	94,3285 mg GAE/g
II	0,0293	115,2696 mg GAE/g
III	0,0259	112,8262 mg GAE/g
Rata-rata		107,4747 mg GAE/g
Kadar total polifenol sebagai asam galat		10,75 %

Tabel 4. Hasil absorbansi asam galat

Standard Asam Galat	Absorbansi (746 nm)
20	0,2269
40	0,4445
60	0,6537
80	0,8112
100	1,1559



Gambar 1 : Kurva asam galat

Hasil variasi konsentrasi asam galat dan absorbansinya dibuat kurva linier sehingga didapatkan $y = 0,0111x - 0,009$ dengan $R^2 = 0.9843$.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa polifenol dari sampel ekstrak biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L). Pada sampel ekstrak biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dilakukan pemisahan senyawa kimia dengan menggunakan metode ekstraksi yaitu soxhletasi dengan menggunakan pelarut etil asetat yang merupakan pelarut semi polar yang baik untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak higroskopis dan memiliki toksisitas rendah (Ahriani *et al.*, 2021). Apabila ekstraksi telah selesai maka pelarut diuapkan untuk didapatkan ekstrak kental. Adapun hasil rendemen ekstrak biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dapat dilihat pada **tabel 1** yaitu sebesar 7,63%.

Untuk pengujian kandunga polifenol dilakukan uji kualitatif menggunakan FeCl_3 1% dapat dilihat pada **tabel 2** yaitu menghasilkan warna coklat kehitaman. Berdasarkan pernyataan Padamani, *et al.*, (2020) bahwa sampel dinyatakan positif mengandung polifenol yang ditandai dengan terbentuknya warna coklat kehitaman. Warna yang terbentuk sebagai akibat dari komposisi larutan FeCl_3 1% yang bereaksi dengan senyawa polifenol. Dengan kata lain bahwa perubahan warna yang terjadi akibat

reaksi antara gugus fungsi hidroksil fenol dengan larutan pereaksi FeCl_3 . (Padamani, *et al.*, 2020) .

Penentuan kadar polifenol dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian ini digunakan pereaksi Folin Ciocalteu. Pereaksi Folin Ciocalteu mudah terurai terutama dalam keadaan basa sehingga harus digunakan berlebih untuk hasil yang maksimal, tetapi dapat beresiko menyebabkan larutan berubah menjadi keruh karena endapan yang dapat mempengaruhi hasil pengukuran Spektrofotometri UV-Vis. Asam galat direaksikan dengan Folin-Ciocalteu menghasilkan warna kuning yang menandakan bahwa mengandung polifenol, setelah itu ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 menghasilkan warna biru (Yulianis *et al.*, 2020).

Pada pengukuran panjang gelombang maksimum asam galat didapatkan panjang gelombang yaitu 746 nm. Kemudian dibuat kurva kalibrasi asam galat dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm, hasil absorbansinya dapat dilihat pada **tabel 4**, kemudian diukur panjang gelombang 746 nm. Diperoleh persamaan garis regresi yang dapat dilihat pada **gambar 1** $y = 0,0111x + (-0,009)$ dengan nilai $R^2 = 0,9843$. Dimana y merupakan nilai absorbansi dan x merupakan kadar asam galat sebagai baku pembanding (Salasa, A. M., & Ratnah, S., 2021).

Pada analisis kadar polifenol dilakukan replikasi penimbangan sebanyak tiga kali dapat dilihat pada **tabel 3** dimana pada perlakuan sampel dilakukan sama dengan perlakuan pada baku pembanding. Sehingga didapatkan rata-rata kadar polifenol yang dari tiga replikasi penimbangan pada ekstrak biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yaitu 107,4747 mg GAE/g setara dengan 10,75 %. Hasil kadar polifenol dalam penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Qulub M., *et al.*, (2019) dimana kadar polifenol yang diperoleh sebesar 108,43 mg GAE/g setara dengan 10,84% (Qulub M., *et al.*, 2019)

Perbedaan kadar polifenol yang diperoleh dalam biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) tidak menutup kemungkinan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti proses ekstraksi, lingkungan dan sifat kimia dari polifenol itu sendiri. Dengan demikian jelas bahwa biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) merupakan salah satu sumber polifenol. Dimana senyawa polifenol merupakan senyawa metabolik sekunder yang memiliki gugus hidroksil (-OH) pada rantai hidrokarbon. Keberadaan gugus ini menjadikan polifenol

sebagai senyawa yang memiliki sifat antioksidan yang baik. Aktivitas antioksidan berperan penting dalam memelihara kesehatan tubuh manusia dari pengaruh radikal bebas. Mekanisme senyawa fenolik sebagai antioksidan terjadi melalui kemampuan donor elektron dari fenol untuk berpasangan dengan elektron radikal bebas dalam tubuh (Padamani, *et al.*, 2020) .

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa kandungan total polifenol ekstrak biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang dihitung sebagai asam galat 107,4747mg GAE/g yang setara dengan 10,75%.

SARAN

Dari hasil penelitian penetapan kandungan polifenol total dari ekstrak biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), maka penulis memberikan saran yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan zat aktif tanaman yang lain yang belum pernah dilakukan pengujian polifenolnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahriani, A., Zelviani, S., Hernawati, H., & Fitriyanti, F. (2022). Analisis Nilai Absorbansi Untuk Menentukan Kadar Flavonoid Daun Jarak Merah (*Jatropha Gossypifolia* L.) Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jft: Jurnal Fisika dan Terapannya*, 8(2), 147-155.
- Dhianawaty, D., & Ruslin. (2019). Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Akar *Imperata cylindrica* (L) Beauv. (Alangalang). *Majalah Kedokteran Bandung*, 47(1), 60–64.
- Firyanto, R., Kusumo, P., & Yuliasari, I. E. (2020). Pengambilan Minyak Atsiri Dari Tanaman Sereh Menggunakan Metode Ekstraksi Soxhletasi. *Journal of Chemical Engineering*, 1(1), 1-6.
- Geofani, C., Septianingrum, N. M. A. N., & Dianita, P. S. (2022). Literature review: efektivitas daya hambat antibakteri tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. *Borobudur Pharmacy Review*, 2(2), 36-49.

- Habbibie, M. J. (2019). Implementasi Jaringan Syaraf Tiruan Backpropagation untuk Mengidentifikasi Jenis Tanaman Mengkudu berdasarkan Tekstur Buah. *JUSS (Jurnal Sains dan Sistem Informasi)*, 2(1), 28-35.
- Padamani, E., Ngginak, J., & Lema, A. T. (2020). Analisis kandungan polifenol pada ekstrak tunas bambu betung (*Dendrocalamus asper*). *Bioma: Jurnal Biologi dan Pembelajaran Biologi*, 5(1), 52-65.
- Qulub, M. S., Wirasti, W., & Mugiyanto, E. (2019, January). Perbedaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun, Daging Buah, Dan Biji Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) Dengan Metode Dpph (1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *In Prosiding University Research Colloquium* (pp. 454-462).
- Risa Fadmi, M. (2024). Penetapan Kadar Polifenol Total Ekstrak Dan Fraksi Etil Asetat Buah Rukam (*Flacourtia Rukam*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis (*Doctoral dissertation, Universitas Mataram*).
- Salasa, A. M., & Ratnah, S. (2021). Hubungan Kandungan Total Polifenol Dan Flavonoid Dengan Potensi Antimikroba Limbah Kangkung Dan Bayam Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial. *Media Farmasi*, 17(1), 10-15.
- Yulianis, Y., Fitriani, E., & Sanuddin, M. (2020). PENETAPAN KADAR POLIFENOL EKSTRAK DAN FRAKSI KULIT PINANG (*Areca catechu* L.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS. *Journal of Healthcare Technology and Medicine*, 6(1), 170-178.